

当归补血汤对低流体剪切应力作用下内皮细胞 功能损伤的保护作用

秦臻¹, 韦正新¹, 黄水清^{2*}

(1. 贵州医科大学基础医学院, 贵阳 550025;
2. 广州中医药大学继续教育学院, 广州 510405)

[摘要] **目的:** 观察不同当归、黄芪质量比(归芪比)的当归补血汤对低流体剪切应力(FSS)损伤内皮细胞功能的保护作用。**方法:** 采用平行平板流动小室加载低 FSS 进行造模, 实验将内皮细胞分为空白组和模型组(分别予以 M199 培养液培养 2 h), 辛伐他汀组(予以 $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的辛伐他汀培养 2 h), 当归补血汤组(予以 $3 \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 归芪比 1:1, 1:3, 1:5 的当归补血汤培养 2 h), 培养结束后弃上清, 空白组加载正常 FSS, 余各组加载低 FSS, 在 30, 60, 360 min 时分别收集每组细胞及灌流液, 噻唑蓝(MTT)比色法检测细胞增殖力, 硝酸酶还原法检测灌流液中一氧化氮(NO)含量, 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)及蛋白免疫印迹法(Western blot)检测细胞一氧化氮合酶(eNOS) mRNA 及蛋白的表达。**结果:** 与空白组比较, 模型组细胞分泌 NO 及表达 eNOS 在 60 min 时显著升高($P < 0.01$), 随后在 360 min 降低; 与模型组比较, 当归补血汤对细胞增殖功能无明显影响, 但可明显促进第 360 min 时细胞的 NO 分泌及 eNOS 表达, 以归芪比 1:3, 1:5 的效果更为显著。**结论:** 当归补血汤对低 FSS 作用下的内皮细胞功能损伤具有一定的保护作用。

[关键词] 当归补血汤; 流体剪切应力; 内皮细胞; 功能; 一氧化氮

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)16-0012-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20191602

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190430.1055.002.html>

[网络出版时间] 2019-05-05 15:39

Protective Effect of Danggui Buxue Tang on Impaired Functional Activity of Endothelial Cells Exposed to Low Flow Shear Stress

QIN Zhen¹, WEI Zheng-xin¹, HUANG Shui-qing^{2*}

(1. School of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;
2. School of Extended Education, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of Danggui Buxue Tang (DGBX) with Angelicae Sinensis Radix (AS) and Astragali Radix (AR) at different ratios on impaired functional activity of endothelial cells (ECs) exposed to low-fluid shear stress (FSS). **Method:** Low FSS was loaded by a parallel plate flow chamber, and ECs were divided into normal FSS group, low FSS group (each preincubated with M199 medium for 2 h), simvastatin group (preincubated with $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ simvastatin for 2 h), and 3 DGBX groups (preincubated with $3 \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ AS and AR at 1:1, 1:3, 1:5 for 2 h, respectively). Then, the normal group was exposed to 1.2 Pa FSS, while the rest groups were all exposed to low FSS. At time points of 30, 60, 360 min, the proliferation was detected by methyl thiazoly tetrazolium (MTT), the secretion of nitric oxide (NO) was

[收稿日期] 20181228(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373522); 贵州省科学技术基金项目(黔科合 J 字[2014]2021 号); 广州市科技计划项目(201803010047)

[第一作者] 秦臻, 博士, 副教授, 从事中医药防治心血管疾病的研究, Tel: 0851-88174021, E-mail: qinzen@gmc.edu.cn

[通信作者] * 黄水清, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中医药防治心脑血管疾病的研究, Tel: 021-36585505, E-mail: hsq@gzucm.edu.cn

detected by nitrate reduction test, and the mRNA and protein expressions of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) were detected by Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) and Western blot, respectively. **Result:** Compared with the normal group, the secretion of NO and the expression of eNOS in ECs were both increased significantly at 60 min ($P < 0.01$), then decreased at 360 min. Compared with the model group, there was no significant change in proliferation in DGBX groups, but DGBX could promote the NO secretion and the expression of eNOS in ECs exposed to low FSS at 360 min respectively, whereas the function of DGBX (AS and AR at 1:3, 1:5) was obviously observed. **Conclusion:** DGBX could protect the functional activity of ECs exposed to low FSS.

[Key words] Danggui Buxue Tang; fluid shear stress; endothelial cell; functional activity; nitric oxide

血液流体剪切应力(FSS)是一种血流与血管壁摩擦产生的平行于血管壁的切线应力。研究表明^[1-3]体内大中动脉的开口、分叉、弯曲等几何形状不规则处是血管内皮动脉粥样硬化病变的好发部位,且这些部位的 FSS 经测量一般均 < 0.4 Pa,明显低于正常水平(正常 FSS 平均值 1.2 Pa),体外力学模型研究也表明 < 0.4 Pa 的 FSS 会诱导内皮功能紊乱,促使动脉粥样硬化的发生及斑块形成;同时,低 FSS 还会降低辛伐他汀对内皮细胞的保护效应;由此可见,低 FSS 不仅是影响血管内皮功能不可忽视的在体因素,也是影响药物作用效果的重要因素^[4-5]。

李东垣《内外伤辨惑论》记载的当归补血汤“治肌热、燥热、口渴引饮,目赤面红,昼夜不息”,全方由当归 1 份和黄芪 5 份组成,具有益气、活血、补血的功效;现代药理学研究表明当归、黄芪及其组方当归补血汤均具有较好的保护血管内皮和抗动脉粥样硬化作用,研究多集中氧化应激损伤方面,并不能完全准确反应药物在体的真实情况^[6-9];尚需进一步明确当归补血汤在低 FSS 影响下对血管内皮细胞的作用效果。为此,本实验拟采用平行平板流动小室装置模拟体内低 FSS 环境^[10-11],观察不同当归黄芪质量比(归芪比)的当归补血汤对内皮细胞增殖功能、分泌一氧化氮(NO)功能、表达内皮型一氧化氮合酶(eNOS)功能的影响。

1 材料

1.1 细胞 人脐静脉内皮细胞由贵州医科大学临床医学研究中心馈赠。

1.2 药物与试剂 当归(批号 20160203)和黄芪(批号 20160912)均产自甘肃,购于贵州百灵药业有限公司,经贵州医科大学药学院龙庆德教授鉴定分别为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的干燥根和豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的干燥根。M199 培养液(美国 Hyclone

公司,批号 NAA1339);胎牛血清(德国 PAA 公司,批号 A15112-0279);NO 测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 A012-1);辛伐他汀,噻唑蓝(MTT)(美国 Sigma 公司,批号分别为 S6196,298-93-1);trizol(美国 Invitrogen 公司,批号 87843);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒(美国 Bio-Rad 公司,批号 1725210);兔抗人 eNOS 多克隆抗体,兔抗人甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体,羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab5589, ab9485, ab97051)。

1.3 仪器 平行平板流动小室(贵州医科大学生物医学工程学院提供);黏附载玻片(江苏世泰实验器材有限公司,批号 80204-7161);BT600-2J 型精密蠕动泵(河北保定兰格恒流泵有限公司);PharMed NSF-51 型医用级蠕动泵软管(法国 Saint-Gobain 公司);ABI 7500 型 Real-time PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司);Mini-Protein Tetra 型电泳槽和 Mini Trans-Blot 型电泳转印槽(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 当归补血汤培养液的制备 称取当归、黄芪质量比(归芪比)为 1:1,1:3,1:5 的生药,每克生药加水 6 mL,浸泡 30 min 后煮沸,文火慢煎 40 min,趁热过滤。二煎每克生药加水 4 mL,煎法同前,合并 2 次滤液,于温度 60 °C 水浴浓缩,制成生药质量浓度为 300 g·L⁻¹ 的水煎液,反复多次离心去渣, 0.22 μm 过滤除菌,调节 pH 7.2~7.4,分装, 4 °C 备用。

2.2 低 FSS 的加载 FSS 加载装置由平行平板流动小室和灌流系统组成^[10-11]。流动小室由 2 层聚甲基丙烯酸甲酯有机玻璃制成,下层玻璃中央有 1 个凹槽,可放置标准规格的显微镜载玻片。蠕动泵运行时可驱使培养液进入流动小室,在载玻片表面形成稳定的 FSS,载玻片上 FSS 的大小根据公式 $\tau = 6 \mu Q / H^2 W$ (μ 为液体黏度, Q 为入口流量, H 为流室

高度, W 为流室宽度) 进行计算。本实验中 τ 值为 1.2 Pa, 灌注液体为 M199 培养液, 其 μ 值为 $7.651 \times 10^{-4} \text{ Pa}\cdot\text{s}$, 通过公式计算出 Q 值, 得到精密蠕动泵的转速, 整个实验在 $37\text{ }^\circ\text{C}$, $5\% \text{ CO}_2$ 的环境中进行。

2.3 内皮细胞爬片的制备及分组 内皮细胞复苏后, 用含 20% 胎牛血清的 M199 培养液培养, 传代 3 次后, 消化收集细胞, 接种于黏附载玻片上, 待细胞铺满载玻片 80% 左右时, 将细胞爬片随机分为空白组、模型组, 分别予以 M199 培养液培养 2 h; 辛伐他汀组, 予以含 $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辛伐他汀的培养液培养 2 h (经 MTT 法筛选, 辛伐他汀对内皮细胞的有效作用范围在 $0.01 \sim 0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 且呈浓度依赖性); 当归补血汤组 (共 3 组), 分别予以含 $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 归芪比为 1:1, 1:3, 1:5 的培养液培养 2 h (经 MTT 法筛选, 归芪各比例对内皮细胞的有效作用范围在 $0.75 \sim 3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 且呈浓度依赖性), 培养结束后弃上清, 将细胞爬片置于流动小室, 空白组加载正常 FSS (1.2 Pa), 余各组加载低 FSS (0.12 Pa), 于 30, 60, 360 min 时收集细胞及灌注液检测相关指标^[12]。

2.4 细胞分泌 NO 功能和细胞增殖的检测 收集各时间点的灌注液, $3\ 500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min 取上清, 按 NO 检测试剂盒操作说明, 采用硝酸还原酶法检测 NO 含量。收集各组细胞, 胰酶消化, 计数, 取等量细胞接种于 96 孔板, 培养 24 h 后, 每孔加入 5% MTT 溶液 $15 \mu\text{L}$, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 培育 4 h, 弃上清, 每孔加入二甲基亚砷 $150 \mu\text{L}$, 震荡 10 min 后, 在酶标仪 570 nm 读取吸光度 A 。

2.5 Real-time PCR 检测细胞 eNOS mRNA 的表达 采用 trizol 法提取各组细胞的总 RNA, 分光光度仪测定 RNA 浓度。扩增按第一链 cDNA 合成试剂盒说明进行, 采用 $20 \mu\text{L}$ 反应体系 ($5 \times \text{PrimeScript Buffer } 4 \mu\text{L}$, $\text{PrimeScript RT Enzyme Mix I } 1 \mu\text{L}$, $\text{Oligo dT Primer } 1 \mu\text{L}$, $\text{RNA } 1 \mu\text{g}$, 加入无核酸酶蒸馏

水使体积达到 $20 \mu\text{L}$), $37\text{ }^\circ\text{C}$ 反转录 15 min, $85\text{ }^\circ\text{C}$ 5 s 终止反应。Real-time PCR 反应体系为 Mix $10 \mu\text{L}$, 上游引物 $1 \mu\text{L}$, 下游引物 $1 \mu\text{L}$, 无核酸酶水 $6 \mu\text{L}$, cDNA Template $2 \mu\text{L}$; 反应条件为 $95\text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 30 s 后, $95\text{ }^\circ\text{C}$ 5 s, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 34 s 扩增 40 个循环, 以 β -肌动蛋白 (β -actin) 为内参。全部引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司设计并合成, eNOS (119 bp) 上游引物 $5' \text{-GCTGTCTGCATGGACCTGGA-3'}$, 下游引物 $5' \text{-TCCACGATGGTGACTTTGGCTA-3'}$, β -actin (186 bp) 上游引物 $5' \text{-TGGCACCCAGCACAATGAA-3'}$, 下游引物 $5' \text{-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGC-3'}$; 用 Relative Quantification (ddCt) Study 软件分析目的基因的相对表达量, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达量。

2.6 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测细胞 eNOS 蛋白的表达 收集各组细胞, 分别提取总蛋白并测定浓度, 配置 12% 的 SDS-PAGE 胶, 取等量蛋白进行电泳, 转膜 3 h 后, 用 5% 的脱脂奶粉封闭, 加入兔抗人 eNOS 多克隆抗体 ($1:500$), $4\text{ }^\circ\text{C}$ 轻摇过夜, TBST 漂洗 3 次, 每次 10 min, 加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗 ($1:1\ 000$), 室温轻摇 2 h, TBST 漂洗后, 采用化学法发光, 显影定影, 以 GAPDH 为内参, 分析目的蛋白条带的相对表达量。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 方差齐性条件下, 采用单因素方差分析法, 组间比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对低 FSS 作用下细胞分泌 NO 功能的影响 与空白组比较, 模型组细胞分泌 NO 显著上升, 在 60 min 时达到较高水平 ($P < 0.05$), 随后在 360 min 时降低; 与模型组比较, 辛伐他汀及归芪各比例均可明显促进低 FSS 作用下 360 min 时细胞 NO 的分泌 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 当归补血汤对内皮细胞分泌 NO 功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	30 min	60 min	360 min
空白	-	5.11 ± 3.38	$14.90 \pm 4.84^{2,3)}$	$17.88 \pm 3.38^{2,3)}$
模型	-	6.81 ± 1.95	$21.29 \pm 4.11^{2)}$	8.94 ± 2.55
辛伐他汀	$0.1^{5)}$	7.66 ± 6.39	$24.27 \pm 3.83^{2)}$	$16.18 \pm 3.90^{3)}$
归芪 1:1	3	7.66 ± 3.83	$22.56 \pm 5.32^{2)}$	$15.75 \pm 2.66^{3)}$
归芪 1:3	3	6.39 ± 2.55	$23.42 \pm 2.65^{2)}$	$16.60 \pm 3.38^{2,3)}$
归芪 1:5	3	6.39 ± 4.60	$21.71 \pm 5.57^{2)}$	$16.18 \pm 7.03^{2,3)}$

注: 组内比较, 与 30 min 比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 同时间点组间比较, 与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; ⁵⁾ 单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (表 2~4 同)。

3.2 对低 FSS 作用下细胞增殖的影响 与空白组比较,模型组细胞增殖随时间延长无显著变化;与模型组比较,辛伐他汀可明显促进低 FSS 作用下 360 min 的细胞增殖 ($P < 0.05$),而归芪各比例对各时间点细胞增殖无显著影响。见表 2。

表 2 当归补血汤对内皮细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of DGBX on proliferation of endothelial cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度 /g·L ⁻¹	30 min	60 min	360 min
空白	-	0.32 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.34 ± 0.03
模型	-	0.31 ± 0.01	0.33 ± 0	0.36 ± 0.05
辛伐他汀	0.1 ⁵⁾	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.04	0.42 ± 0 ³⁾
归芪 1:1	3	0.35 ± 0.05	0.37 ± 0.03	0.39 ± 0.02
归芪 1:3	3	0.35 ± 0.04	0.38 ± 0.05	0.39 ± 0.05
归芪 1:5	3	0.35 ± 0.03	0.38 ± 0.01	0.41 ± 0.01

3.3 对低 FSS 作用下细胞 eNOS mRNA 的影响

与空白组比较,模型组细胞表达 eNOS mRNA 在 60 min 时显著上调 ($P < 0.01$),随后在 360 min 时降低;与模型组比较,辛伐他汀及归芪 1:3, 1:5 可明显促进低 FSS 作用下 360 min 时细胞 eNOS mRNA 的表达 ($P < 0.05, P < 0.01$),而归芪 1:1 对细胞 eNOS mRNA 的表达无显著影响。见表 3。

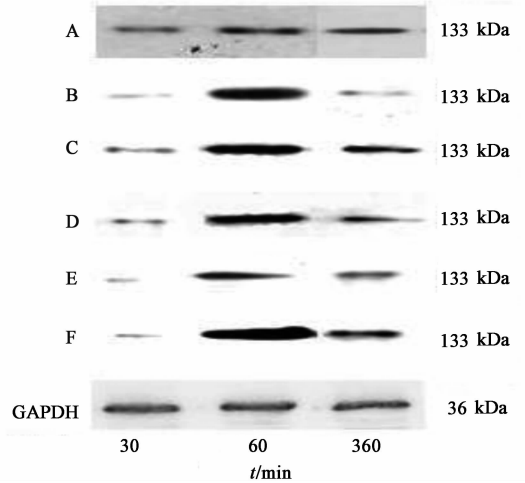
表 3 当归补血汤对内皮细胞表达 eNOS mRNA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of DGBX on expression of eNOS mRNA in endothelial cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度 /g·L ⁻¹	30 min	60 min	360 min
空白	-	1.05 ± 0.14	2.24 ± 0.33 ^{2,4)}	3.27 ± 0.51 ^{2,4)}
模型	-	0.89 ± 0.20	5.17 ± 0.84 ²⁾	1.60 ± 0.45
辛伐他汀	0.1 ⁵⁾	1.16 ± 0.31	5.76 ± 0.65 ²⁾	2.57 ± 0.54 ^{1,4)}
归芪 1:1	3	1.16 ± 0.22	5.04 ± 0.17 ²⁾	2.06 ± 0.51 ¹⁾
归芪 1:3	3	1.16 ± 0.13	5.29 ± 0.53 ²⁾	2.35 ± 0.35 ^{1,3)}
归芪 1:5	3	1.21 ± 0.14	5.75 ± 0.52 ²⁾	2.32 ± 0.36 ^{1,3)}

3.4 对低 FSS 作用下细胞 eNOS 蛋白的影响 与空白组比较,模型组细胞表达 eNOS 蛋白在 60 min 时显著上调 ($P < 0.01$),随后在 360 min 时降低;与模型组比较,辛伐他汀及归芪 1:3, 1:5 在可明显促进低 FSS 作用下 360 min 时细胞 eNOS 蛋白的表达 ($P < 0.01$),而归芪 1:1 对细胞 eNOS 蛋白表达无显

著影响。见图 1,表 4。



A. 空白组;B. 模型组;C. 辛伐他汀组;D. 归芪 1:1 组;E. 归芪 1:3 组;F. 归芪 1:5 组

图 1 内皮细胞 eNOS 蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of eNOS protein expression in endothelial cells

表 4 当归补血汤对内皮细胞 eNOS 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of DGBX on expression of eNOS protein in endothelial cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度 /g·L ⁻¹	eNOS/GAPDH		
		30 min	60 min	360 min
空白	-	0.43 ± 0.02	1.27 ± 0.17 ^{1,4)}	1.88 ± 0.34 ^{2,4)}
模型	-	0.23 ± 0.03	3.12 ± 0.30 ²⁾	0.37 ± 0.02
辛伐他汀	0.1 ⁵⁾	0.47 ± 0.02	3.28 ± 0.25 ²⁾	1.61 ± 0.13 ^{2,4)}
归芪 1:1	3	0.41 ± 0.01	3.34 ± 0.28 ²⁾	0.58 ± 0.04
归芪 1:3	3	0.18 ± 0.04	1.46 ± 0.21 ^{2,4)}	0.91 ± 0.06 ^{2,4)}
归芪 1:5	3	0.16 ± 0.05	3.31 ± 0.40 ²⁾	1.33 ± 0.19 ^{2,4)}

4 讨论

体内血流会对血管壁会产生 3 种机械力,即 FSS,静水压和环形张力,其中 FSS 是与血管内皮关系最为密切的力学因素之一。研究表明^[1-4]血液呈稳定层流时产生的正常 FSS 可保护血管内皮功能,减轻内皮炎症,而血流异常变化时产生的低 FSS 则可诱导血管内皮功能紊乱,促使动脉粥样硬化的发生发展。

血管内皮细胞作为血管壁与血液之间的天然屏障,不断接受着 FSS 的力学信号刺激,产生着广泛的生物学效应。其中,NO 是内皮细胞合成和分泌的重要物质,主要在 eNOS 催化作用下产生,适量的 NO 分泌可保护血管内皮功能,而过量的 NO 分泌则会引起内皮细胞通透性的改变,致使内皮细胞功能

紊乱,引起血管内皮损伤^[13-14]。本实验表明正常 FSS 作用下,内皮细胞随时间延长分泌 NO 并表达 eNOS 平稳增高,这有利于内皮环境稳态的维护;而低 FSS 作用下,内皮细胞虽在短期内分泌大量 NO 且 eNOS 表达上调迅速,但随后细胞分泌 NO 和表达 eNOS 却急剧降低,这可能是由于内皮细胞在低 FSS 作用下其 eNOS 随时间延长而快速消耗怠竭,导致 NO 分泌下降,提示低 FSS 作用下会损害内皮细胞的 NO 分泌和 eNOS 表达功能。

一般认为血管内皮损伤可由其附近的内皮细胞增殖修复,因而能促进内皮细胞增殖的药物具有一定的血管内皮保护作用;但体内环境中,血管内皮细胞过度的增殖和更替会使内皮通透性增加,使单核细胞和脂质更容易进入内皮下,不利于内皮环境的稳定。既往研究显示低 FSS 会促进内皮细胞的增殖和凋亡,导致细胞频繁更替,而本实验中低 FSS 作用下细胞增殖功能暂无明显变化,考虑可能因低 FSS 作用时间过短,细胞尚未出现增殖功能方面的改变^[4]。

古今医家以当归补血汤命名的方剂多达十余首^[15],以金元四大家之一李东垣《内外伤辨惑论》里记载的归芪比为 1:5 的当归补血汤沿用较广。既往研究表明^[16]当归补血汤可促进内皮细胞增殖,而本实验中当归补血汤对低 FSS 作用下的内皮细胞增殖无明显影响,这表明低 FSS 降低了当归补血汤的促细胞增殖效应。此外,当归补血汤可促进低 FSS 作用下受损的内皮细胞 NO 分泌和 eNOS 表达,以归芪比为 1:3,1:5 的作用效果更显著,这表明随黄芪所占比例的增大,当归补血汤的血管内皮保护效应在低 FSS 作用下更为显著。由于体内 FSS 的产生与气血关系密切,当归补血汤是否能通过其益气活血补血的功效改善体内局部低 FSS 环境,能否提高内皮细胞对低 FSS 的耐受性,能否提高低 FSS 作用下内皮细胞对药物的敏感性来保护血管内皮,这些都尚需进一步的探索。

[参考文献]

[1] Cunningham K S, Gotlieb A I. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. Lab Invest, 2005, 85(1):9-23.
[2] Davies P F. Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology [J]. Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2009, 6(1):16-26.

[3] PAN S. Molecular mechanisms responsible for the atheroprotective effects of laminar shear stress [J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(7):1669-1682.
[4] Fisher A B, Chien S, Barakat A I, et al. Endothelial cellular response to altered shear stress [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2001, 281(3):529-533.
[5] Rossi J, Jonak P, Rouleau L, et al. Differential response of endothelial cells to simvastatin when conditioned with steady, non-reversing pulsatile or oscillating shear stress [J]. Ann Biomed Eng, 2001, 39(1):402-413.
[6] 马霞, 丁军霞, 顾志荣, 等. 当归挥发油对人脐静脉内皮细胞增殖作用的谱效关系 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(6):70-73.
[7] 刘洋, 杜靖, 沈颜红. 10 种药用黄芪属植物化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(18):222-234.
[8] 张志斌, 陆曙, 周春刚, 等. 当归补血汤对大鼠动脉内皮细胞凋亡的干预作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3):215-218.
[9] 黄水清, 韩凌, 王剑, 等. 当归补血汤含药血清抗动脉粥样硬化的机理研究——对氧化修饰低密度脂蛋白趋化单核细胞作用的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2004, 21(4):304-305.
[10] 付强, 刘艳辉, 徐亚娟, 等. 细胞体外流体剪切力加载装置平行平板流室的合理设计与应用 [J]. 中山大学学报:医学科学版, 2009, 30(S3):68-71.
[11] Chung B J, Robertson A M, Peters D G. The numerical design of a parallel plate flow chamber for investigation of endothelial cell response to shear stress [J]. Comput Struct, 2003, 81(8):535-546.
[12] 张晓娟, 顾光涛, 张凯, 等. 不同剪切力作用与不同时间点细胞内皮素-1 和一氧化氮含量变化的差异 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(8):174-176.
[13] 薛永亮, 唐宁, 华晓东, 等. 一氧化氮与动脉粥样硬化 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17(8):698-701.
[14] 段丹丹, 于秋丽, 赵颖馨, 等. 氧化型低密度脂蛋白对剪切力诱导的人主动脉内皮细胞一氧化氮合酶表达的影响 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2017, 19(1):13-15.
[15] 范颖, 陈信义. 当归补血汤源流及配伍效用关系研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(10):61-65.
[16] 吴岩, 祝彼得. 当归补血汤对内皮细胞增殖和粘分子表达的影响 [J]. 华西医科大学学报, 2001, 32(4):593-595.

[责任编辑 周冰冰]